

Molecular characterization of genes involved in fruiting body formation of *Polysphondylium pallidum*

著者	Kawabe Yoshinori
内容記述	Thesis (Ph. D. in Science)--University of Tsukuba, (B), no. 1847, 2002.6.30 Includes bibliographical references
発行年	2002
URL	http://hdl.handle.net/2241/5547

氏 名 (本 籍)	かわ べ よし のり 川 邊 愛 徳 (千 葉 県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 1847 号
学位授与年月日	平成 14 年 6 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	生物科学研究科
学 位 論 文 題 目	Molecular Characterization of Genes Involved in Fruiting Body Formation of <i>Polysphondylium pallidum</i> (<i>Polysphondylium pallidum</i> の子実体形成に関与する遺伝子の解析)
主 査	筑波大学教授 農学博士 田 仲 可 昌
副 査	筑波大学教授 理学博士 平 林 民 雄
副 査	筑波大学教授 理学博士 堀 輝 三
副 査	筑波大学助教授 理学博士 漆 原 秀 子

論 文 の 内 容 の 要 旨

細胞性粘菌は細菌を補食して増殖する単細胞生物であるが、飢餓状態になると細胞が集合して多細胞体を形成し、最終的に柄と胞子の 2 種類の細胞からなる子実体を形成する。細胞性粘菌の一種 *Dictyostelium discoideum* の子実体は柄の先端に胞子塊が 1 つだけある単純な体制であるが、近縁種である *Polysphondylium pallidum* の子実体は、規則的な車軸状の分枝構造を持ち、より複雑な形態である。この 2 種の細胞性粘菌の子実体形成機構を比較することにより、生物がより複雑な形態を獲得する機構に関する知見が得られるものと考えられる。*D. discoideum* では、子実体形成期の多細胞体中で予定胞子領域と予定柄領域が明確に分かれているという特徴を有している。また子実体形成に関わる多くの遺伝子の研究も活発に進められている。一方、*P. pallidum* の子実体形成機構に関する研究はほとんど行われていない。このような背景のもとで、本研究は *P. pallidum* の子実体形成に関わる遺伝子を同定してその機能を解析し、最終的には *P. pallidum* の子実体がより複雑な構造を獲得した機構を明らかにすることを目的としている。

そのために、挿入突然変異体を作製し原因遺伝子を同定・解析する方法を採用し、2 種類の変異体を得て子実体形成に関わる二つの遺伝子を同定・解析した。一つは、野生株より長い分枝をもつ子実体を形成する変異体で、*lbrA* (long branch A) と名付けたこの変異形質の原因遺伝子は、小胞体とゴルジ体間のコートマー被覆小胞を介したタンパク質の輸送に関わる p24 ファミリータンパク質と高い相同性を示した。子実体形成過程において、*lbrA* 欠損株が野生株と異なる表現型を示す時期は、*lbrA* mRNA の発現時期が最大となる時期より遅れていた。このことは、子実体形成に関わるタンパク質が輸送小胞で正常に輸送されないために *lbrA* 欠損株に特有の表現型が引き起こされることを示唆している。この成果は、細胞内小胞輸送に関わるタンパク質が多細胞体の形態形成に関与していることを示した最初の例である。

もう一つは、親株に比べて主軸が太くて不均一であり、分枝の数が少ない子実体を形成する変異体で、この変異形質を引き起こす原因遺伝子を *tasA* (thick and aberrant stalk A) と名付けた。*tasA* がコードするアミノ酸配列は、*D. discoideum* で子実体形成時に柄細胞や胞子への分化などに関与している cAMP 受容体に高い相同性を示した。GFP と TasA との融合タンパク質を *tasA* のプロモーターの制御下で発現させる形質転換体 (*tasA::gfp* 株) を作製して、子実体形成時に TasA を合成する細胞の局在を調べたところ、この細胞が局在する領域は将来枝になる

部分を形成する領域に限られていた。このことは、*D. discoideum* の予定胞子領域と予定柄領域と同様に、分枝を形成する「予定枝領域」と主軸と先端の胞子塊になる「予定軸領域」と呼ぶべき領域が、*P. pallidum* には存在することを示唆している。TasAの子実体形成時の機能を調べるために、破壊株と親株を混合して発生させたところ、両株の細胞の挙動には差がなかった。また、*tasA::gfp* 株と破壊株を混合して発生させた実験から、破壊株では予定枝領域が少なくなっていることが予想された。これらの結果は、TasAの子実体形成時の機能は、個々の細胞の分化ではなく、予定枝領域の割合を維持する点にあることを示唆している。さらに*D. discoideum* のcAMP受容体にはTasAと同様に予定胞子領域の割合の維持に機能しているものもあり、両種の形態形成過程で、両種で同じような機構が存在していることを示唆している。

審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞性粘菌 *P. pallidum* の子実体は柄と胞子のわずか2種類の分化した細胞からなるが、規則的な車軸状の分枝構造をしており、子実体の先端に胞子塊が1つだけある近縁種 *D. discoideum* の子実体に比べてより複雑である。本研究では、これまでほとんど子実体形成機構の研究が行われていない *P. pallidum* で、形態形成に関与する2種類の遺伝子を同定し、子実体形成時におけるその機能について解析をしている。1つは細胞内小胞輸送に関与するタンパク質をコードしており、このようなタンパク質が形態形成に関与していることを示したということは高く評価できる。もう一つの遺伝子は *D. discoideum* の細胞分化に深く、関わっているcAMP受容体に高い相同性を示すもので、その子実体形成時の局在と機能から、*P. pallidum* におけるTasAの機能について重要な知見を得ている。これらの知見は生物の形態の進化における複雑化の過程を研究する上で重要な視点を与えるものである。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。